

眼疾患の遺伝子治療

坂本, 泰二
九州大学大学院医学研究院眼科学分野

<https://doi.org/10.15017/7218240>

出版情報：福岡医学雑誌. 93 (10), pp.204-207, 2002-10-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：



解 説

眼疾患の遺伝子治療

九州大学大学院医学研究院眼科学分野

坂 本 泰 二

眼球と遺伝子治療

遺伝子治療は、1990年代初期から臨床応用が始まった新しい治療法であり、従来の対症的な治療法と異なり疾患の根本を治療する方法として大いに期待されてきました。当初期待されたほどの効果が得られないことが分かりましたが、様々な改良が行われ、現在では虚血性血管病変や悪性腫瘍などへの臨床応用が日本でも始まっています。

眼疾患への遺伝子治療というと、意外に思われるかも知れませんが、眼球は様々な点で遺伝子治療に適しています。

第一に、眼球は表在性臓器なので遺伝子導入の操作が極めて容易であることです。眼球内の操作は日常手術で行っており、遺伝子導入ベクターの挙動は直視下で正確にモニター可能です。これは、脾臓などの深部臓器と比較すると良く分かると思います。

第二に、眼球は閉鎖系であり眼球内に導入された遺伝子は全身に播種する可能性が低いという点です。遺伝子治療の究極の安全性は不透明なので、導入遺伝子が目的臓器のみに留まることは大きな利点です。眼球には血液眼関門といわれるしくみがありますので、眼球内の遺伝子が血液を介して全身に拡がることはありません。

第三に、対象疾患の遺伝子変異が良く分かっており、しかも単一遺伝子変異のような単純なものが多いという点です。遺伝性をはっきりしている疾患でも、いくつかの遺伝子により発症するものは遺伝子治療の効果はあまり期待できません。また、2型糖尿病のように環境因子の影響がある疾患では効果はより分かりにくいでしょう。眼科領域で遺伝子治療の対象疾患になっているのはほとんどが網膜色素変性症です。この疾患の原因遺伝子としてロドプシン遺伝子、cGMP ホスホジエステラーゼ遺伝子などが報告されていますが、多くは遺伝子変異により機能を欠失したことが原因ですので正常遺伝子を導入することで治療が可能だと考えられています。

第四に、網膜色素変性症の患者さんには、遺伝子治療に協力的な姿勢があるということです。この疾患は成人前後に発症することが多く、最初は夜盲の症状を覚え、数十年かけて視野が狭窄して行くという経過を取ります。患者数は多く日本だけで2万人以上を数えます。視機能以外は正常である場合がほとんどですので、患者さんの悩みは深く同時に治りたいという意志も強いのです。これらの人々によりアメリカを中心に網膜色素変性症協会という患者団体が設立され、この疾患の治療研究に金銭的あるいは社会的支援を広く行っています。網膜色素変性症協会は、遺伝子治療に積極的に協力しており臨床応用研究の際には、後の世代のために自分の眼球を使ってくれという申し出が後を絶ちません。新しい治療の確立のためには患者さんの協力が不可欠ですが、この点からも眼科領域の遺伝子治療は有望なのです。

眼科遺伝子治療の現状

以上のような理由で、眼科領域の遺伝子治療研究は精力的に行われてきました。1990年代前半は眼球への遺伝子導入の評価の時期といえますが、そのころ用いられていたレトロウイルスベクターやアデノウイ

ルスベクターは、現在は用いられていません。分裂しない網膜細胞へのレトロウイルスベクターによる遺伝子導入効率は極端に低く、またアデノウイルスベクターによる遺伝子導入は炎症を引き起こすので視力障害を起こすからです。1996年に網膜色素変性マウスにアデノウイルスベクターを用いて β フォスフォジエステラーゼのcDNAを導入すると網膜変性が形態学的に抑制されることが最初に報告されました。これは変異遺伝子を補充するだけで網膜色素変性症の治療が可能であるという現在の治療戦略が大筋では間違っていないということを示した重要なものでした。しかし、アデノウイルスベクターの遺伝子発現は一過性ですのでこのままではひとの治療には使えません。そこで現在はアデノ随伴ウイルスベクターやレンチウイルスベクターが用いられています。どちらもいくつかの欠点があるものの、目的遺伝子が細胞の染色体内に組み込まれるので長期的な遺伝子発現が可能です。また、アデノウイルスベクターなどにくらべると炎症をおこす作用はきわめてわずかです。ラットなどの小動物では同じような実験がくり返され、遺伝子治療により網膜構造を保つことはできるというコンセンサスを得るに至りました。ここで問題となるのは、視力検査というのは患者の応答に基づいて判断されるため動物実験、(特に小動物)では限界があるということです。つまり、臨床応用のためには大型動物で効果を証明する必要があるのです。そこでアメリカでは犬を使った実験が行われました。Leber 先天盲という遺伝性の犬の病気は RPE 65 という遺伝子に異常があるために発症することが分かっていました。この子犬の片眼にアデノ随伴ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行ったところ、治療された眼の側の障害物は犬は避けて歩くのに、無治療の側の障害物は避けずにぶつかって歩くようになりました。この犬のビデオ映像はアメリカの研究学会等で流され、大きな驚きと賞賛を得ました。つまり、網膜色素変性症の遺伝子治療は、組織学的な治療効果のみでなく実際に大型動物の視力低下を抑制したというまさに治療効果があったのです。犬の病気の進行はラットなどにくらべるとずっと人間に近いので、臨床応用も可能なところまで来ているといえます。

しかし、いつ臨床応用されるかについては様々な意見があります。有名な話なので御存じとは思いますが、ペンシルバニア大学で遺伝子治療の臨床試験中に、ウイルスベクターによると思われる死亡例が起こり、しかもそれを正常な手続きで報告していなかったため大きな社会問題となり遺伝子治療全体の臨床応用は大きく遅れました。従来の治療法であれば、大型動物で効果が証明できれば人への応用も近いといえましたが、遺伝子治療は極めて新しい治療なので臨床応用の時期はまだ予測がつきません。

我々の取り組み

九州大学眼科は日本で最も早く眼遺伝子治療の研究を始めました。レトロウイルスベクターやアデノウイルスベクターなどを含めて多くの遺伝子導入実験を行った結果、アデノウイルスベクターなどを使って遺伝子を過剰発現させると治療効果が得られるということは分かりました。具体的には vascular endothelial growth factor (VEGF) の受容体 flt-1 遺伝子を過剰発現させると、ラットの眼内血管新生(図1)や腫瘍の増殖を抑制させることが可能ですし、transforming growth factor (TGF)- β の II 型受容体遺伝子を過剰発現させると網膜や角膜の線維化が強力に抑制されます。このことはアデノウイルスベクターを用いた眼科関連疾患遺伝子治療の可能性を大きく示唆するものでした。しかし、同時に行った安全性試験では、やはりアデノウイルスベクターには問題があり、このままでは臨床応用はできないと考えております。

ところで、遺伝子治療研究は、いわゆるサイエンス以外に医療経済の問題を大きく孕んでいます。遺伝子治療開発に成功すれば、直ちに莫大な経済的利益を得る可能性がありますので、欧米で開発された遺伝子導入ベクターなどは厳重に欧米の特許で保護されています。最近は用途特許の概念も広がっており、欧米の技術を使って治療法の開発に成功しても、却ってこちらに莫大な特許使用料が要求されるのです。したがって、せっかく苦労して優れた方法を開発しても、欧米が許可しなければ臨床応用することは不可能であり、従来のような善意による研究は、難しいでしょう。ですから、国産の技術あるいは欧米に特許を握られていない方法を用いなければ臨床応用は不可能ですので、あまり研究する意味はないのです。

そのことが分かってきた 1995 年頃から、我々は独自の遺伝子導入技術を開発するように試みてきまし

た。その一つが電気パルスを用いた遺伝子導入です。In vitro の実験系では高い電圧をかけると一過性に細胞膜が壊れて、DNA を細胞質内に導入することが可能でしたが、細胞障害性が強いいため臨床応用はおろか in vivo の遺伝子導入さえ不可能と考えられていました。しかし、眼球内の細胞は適切な条件の矩形波を用いることで遺伝子導入が可能であることが分かりました。この方法を始めた時点では、このやり方で遺伝子導入できるということはなかなか信じてもらえませんでした。最近では九州大学学内でも広く行われています。この方法は、ウイルスベクターを用いませんので安全性が高く優れた方法でしたが、遺伝子発現期間が短いので、先ほど述べた網膜色素変性症のような長期の遺伝子発現が必要な疾患の治療には不向きです。しかし、眼内に比較的短期間生理活性物質を投与しようとする場合には極めて効果的な方法です。事実、動物実験では眼内出血後のフィブリン形成による緑内障の治療に効果をあげています。

我々が目標とする網膜色素変性症の治療のため、最近九州大学病理学教室の居石克夫教授、米満吉和先生が DYNAVEC 研究所と共同開発されたサルレンチウイルスベクターを使った方法に転換しています。これは導入遺伝子が受容細胞の染色体に組み込まれるので遺伝子発現は極めて長期間続きます。我々のラットのデータでは1年以上の遺伝子発現の持続が可能でした。しかも、炎症を起こす作用は極めて微弱で、また網膜機能障害はほとんどありませんでした。このウイルスベクターは、現在の所、遺伝子発現の問題および安全性の問題、さらには特許の問題からもベストに近いものであり将来の臨床応用が大きく期待できます。ただし、人に対する安全性の確認にはまだ少し研究が必要な様ですし、経済性などの評価も必要でしょう。

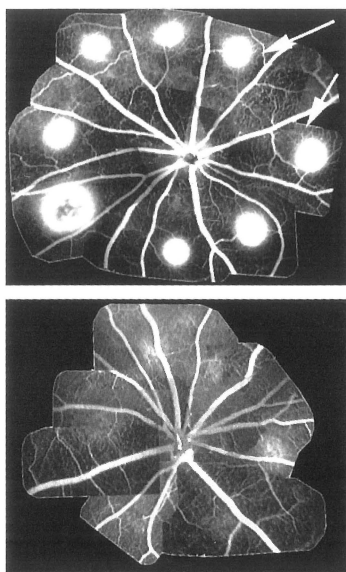


図1 VEGFflt-1 遺伝子導入による網膜下血管新生の治療を行ったラットの眼底血管造影写真
上：コントロール眼。矢印で示す網膜下血管新生が見られる。
下：治療眼。血管新生が明らかに抑制されている。

今後の方向

分子生物学の発達により遺伝子を治療するという今までは考えられなかった治療法が現れてきました。眼科領域にはまさにこの方法で治療が可能な多くの疾患があり、今後の発展が期待できます。しかし、将来患者さんがこの治療の恩恵にあずかれるかどうかは、純粋に医学的問題だけでなく経済的問題にも大きく左右されるでしょう。今後はそれら全ての視点から考えて患者さんへ最も幸福がもたらされる研究を模索することが大切です。

文 献

- 1) Honda M, Sakamoto T, Ishibashi T, Inomata H and Ueno H : Experimental subretinal neovascularization is inhibited by adenovirus-mediated soluble VEGF/flt-1 receptor gene transfection: A role of VEGF and possible treatment for SRN in age-related macular degeneration. *Gene Ther* 7 (11) : 978-985, 2001.
- 2) Ikeda Y, Yonemitsu Y, Sakamoto T, Ishibashi T, Ueno H, Kato A, Nagai Y, Fukumura M, Inomata H, Hasegawa M and Sueishi K : Recombinant Sendai Virus-Mediated Gene Transfer into Adult Rat Retinal Tissue : Efficient Gene Transfer by Brief Exposure. *Exp Eye Res* (in press).
- 3) Sakamoto T, Ueno H, Goto Y, Oshima Y, Yamanaka I, Ishibashi T and Inomata H : Retinal functional change caused by adenoviral vector-mediated transfection of LacZ gene. *Hum Gene Ther* (6) : 799-789, 1998.
- 4) Sakamoto T, Oshima Y, Nakagawa K, Ishibashi T, Inomata H and Sueishi K : Target gene transfer to cornea inhibits intracameral fibrin formation and corneal cloudiness. *Hum Gene Ther* 10 (15) : 2551-2557, 1999.
- 5) Sakamoto T, Ueno H, Sonoda KH, Shikizu K, Ohashi H and Inomata H : Blockade of TGF- β by in vivo gene transfer of a soluble TGF- β type II receptor in the muscle inhibits corneal opacification, edema and angiogenesis. *Gene Ther* (7) : 1915-1924, 2000.
- 6) Sakamoto T, Ikeda Y and Yonemitsu Y : Gene targeting to the retina (review). *Adv Drug Del Rev* 52 (1) : 93-102, 2001.